



Efeito da fortificação alvo de leite humano no crescimento de recém-nascidos muito pré-termo

**“Effect of target fortification of human milk on
very low preterm infants growth”**

Beatriz Granja Fernandes

Orientado por: Dr.^a Manuela Cardoso

Tipo de documento: Trabalho de Investigação

Ciclo de estudos: 1.º Ciclo em Ciências da Nutrição

**Instituição académica: Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação
da Universidade do Porto**

Porto, 2018

Resumo em Português

Atendendo às necessidades nutricionais elevadas e ao aporte hídrico limitado dos recém-nascidos (RN) muito pré-termo, o leite materno (LM) não fornece nutrientes em quantidade necessária para um desenvolvimento adequado. É assim fundamental, fortificá-lo.

A fortificação pode ser feita com base na composição estimada do leite (Fortificação Ajustada), ou após a sua análise (Fortificação Alvo). Ambos os métodos têm vantagens e limitações, não havendo ainda consenso quanto a claras vantagens sobre o impacto na velocidade do crescimento.

Este estudo tem por objetivo avaliar o aporte nutricional de RN muito pré-termo (RNMPT) alimentados com LH fortificado (LHF), através dos dois métodos referidos anteriormente, e comparar as taxas de crescimento dos dois grupos e com as recomendações.

Foi utilizada a Fortificação Alvo em RNMPT e comparados os resultados com um estudo já realizado na mesma Unidade, em que foi utilizada a Fortificação Ajustada (grupo controlo).

No grupo de estudo verificou-se um suprimento energético superior e proteico inferior, estando este, no entanto, dentro dos valores recomendados. A velocidade ponderal média no grupo de estudo foi superior ao grupo controlo.

Com a ressalva de que este estudo está no início e a amostra é muito pequena, conclui-se que a Fortificação Alvo permite atingir um aporte nutricional de acordo com as recomendações e uma melhor velocidade de crescimento, o que constitui uma mais-valia para os RNMPT.

Palavras-Chave em Português

RNMPT; Fortificação Alvo; Aporte nutricional; Taxa de crescimento

Resumo em Inglês

Due to high nutritional requirements and restricted fluid intake of very low preterm infants, mother's milk (MM) does not provide adequate amounts of most nutrients and must be fortified.

There are two approaches to fortification: based on average composition of milk (adjustable fortification) or based on the analysis of MM (target fortification). Both methods have advantages and limitations, and it is not yet clear the best approach to improved growth.

The aim of this study was to evaluate the nutritional intakes of very low preterm infants with adjustable fortification and target fortification, and compare the growth velocity of both groups and with the recommendations.

In this study we use the target fortification and compare to a previous study with adjustable fortification (control group).

It was found a higher energy intake and a lower protein intake, although according to the recommendations. It was achieved a higher growth velocity compared to control group.

Beside the fact that this study is only in the beginning and it has a small number of participants, it was accomplished a more suitable nutritional intake and better growth velocity.

Palavras-Chave em Inglês

Very low preterm infant; Target fortification; Nutritional intake; Growth velocity

Sumário

Resumo e Palavras-Chave em Português	i
Resumo e Palavras-Chave em Inglês	ii
Introdução	1
Objetivos	2
Metodologia	3
Resultados	8
Discussão	12
Conclusões	14
Agradecimentos	15
Referências	16

Introdução

Todos os anos mais de 1 em cada 10 bebês nasce prematuro em todo o mundo.⁽¹⁾ Em Portugal, estes representavam 8,7% do total de nascimentos em 2016.⁽²⁾ Com o aumento dos partos prematuros e a maior sobrevivência dos RN pré-termo (RNPT), tem-se verificado um avanço notável ao nível dos cuidados e intervenções neonatais, incluindo a adequação da nutrição, que continua a ser um desafio diário.^(1, 3)

Uma das maiores preocupações associadas aos RNMPT é a restrição de crescimento (RC), sendo o insuficiente aporte nutricional uma das principais causas, particularmente durante as primeiras semanas de vida.^(4, 5)

Quando alimentados por via entérica, o LM é a primeira escolha devido às suas propriedades imunológicas, anti-infecciosas e nutricionais. O LM garante efeitos benéficos a curto prazo, diminuindo o risco de enterocolite necrosante (ECN) e favorecendo a tolerância intestinal dos RN. Apresenta ainda benefícios a longo prazo, melhorando o desenvolvimento neurológico e saúde óssea, e diminuindo o risco de doença cardiovascular, diabetes e obesidade.^(3, 6-9)

Aquando da indisponibilidade do LM, é recomendada a utilização do leite de dadora (LD) pela European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition (ESPGHAN). Comparativamente com as fórmulas para pré-termo (FPT), o LD melhora a tolerância gástrica e diminui o risco de ECN e sépsis nosocomial. Justifica-se assim a prioridade que deve ser dada ao leite humano (LH) na alimentação dos RN, assumindo particular importância no RNMPT.^(3, 10)

Do ponto de vista do aporte nutricional, contudo, e dadas as necessidades nutricionais destes RN, o LH é insuficiente. Torna-se por isso imperativo, fortificá-lo.^(9, 11, 12)

Existe no mercado português um fortificante de LH, que se adiciona ao leite numa dose previamente definida. Desta forma, o LH aumenta a sua densidade proteica em 1,1g e calórica em 15kcal. O plano nutricional dos RN pode posteriormente ser personalizado, com adição de suplementos modulares – proteína e lípidos, estes na forma de triglicerídeos de cadeia média (TCM).^(3, 12-14)

Nem sempre a composição do LH é conhecida e, dessa forma, a fortificação é feita com base na composição estimada do leite. Chama-se-lhe Fortificação Ajustada e tem por linha de orientação a resposta metabólica do RN, nomeadamente os seus valores da ureia sérica (*blood urea nitrogen*, BUN), que devem estar entre 9 e 14 mg/dl.^(3, 9, 11, 12)

Tem sido entretanto desenvolvida outra forma de fortificação, a Fortificação Alvo, que implica análise prévia de LH, permitindo assim fortificá-lo de acordo com as recomendações e otimizar o aporte proteico e a razão Proteína:Energia (P:E).^(3, 9)

Objetivos

Este trabalho tem como objetivo primário a comparação do aporte nutricional de RNMPT alimentados com LHF, através da Fortificação Ajustada e da Fortificação Alvo. Como objetivos secundários, pretende fazer a comparação da taxa de crescimento dos RN de ambos os grupos, e daquela com a taxa de crescimento recomendada.

Metodologia

Desenho do estudo e participantes

Este estudo quase-experimental foi desenvolvido nas Unidades de Cuidados Intensivos e Cuidados Intermédios de RN no Centro Hospitalar de Lisboa Central, EPE (CHLC), polo Maternidade Dr. Alfredo da Costa (MAC).

O estudo foi constituído por uma componente prospetiva (grupo estudo) e uma componente retrospectiva (grupo controlo).

Grupo estudo – componente prospetiva

A componente prospetiva compreende um grupo de RNMPT internados nas Unidades de Cuidados Intensivos e Cuidados Intermédios de RN da MAC, no período entre 14 de março de 2018 e 31 de maio de 2018.

Foram recrutados RNMPT com menos de 33 semanas de IG ao nascer, alimentados predominantemente com LHF e após o consentimento informado dos pais.

Os critérios de exclusão foram as malformações congénitas major e doenças hereditárias do metabolismo.

A recolha de dados dos participantes terminou no momento em que os RN iniciaram a amamentação (impossibilitando a contabilização do aporte), a FPT constituiu mais de 12,5% do aporte entérico, ou no momento da alta ou transferência hospitalar, o que acontecesse primeiro.

Grupo controlo – componente retrospectiva

A componente retrospectiva compreende dados de um estudo prévio com RNMPT⁽¹³⁾, internados nas Unidades de Cuidados Intensivos e Cuidados Intermédios de RN da MAC, recolhidos entre 1 de fevereiro de 2014 e 28 de fevereiro de 2015.

Os critérios de inclusão, exclusão e fim de recolha de dados dos participantes foram semelhantes à componente prospetiva.

Variáveis analisadas

Para realização deste estudo foram recolhidas de cada RNMPT as variáveis: IG ao nascer, sexo, tipo de parto, gemelaridade, antropometria no nascimento (peso, comprimento e PC ao nascer), displasia broncopulmonar (DBP), restrição de crescimento, *score for neonatal acute physiology perinatal extension* (SNAP PE), duração da ventilação mecânica invasiva (VMI), sépsis (precoce ou nosocomial), presença e grau de hemorragia intra-periventricular (HIPV), canal arterial (CA) patente significativo, presença e grau de ECN, retinopatia da prematuridade (ROP), tempo de internamento, aporte nutricional diário e IG corrigida na alta hospitalar.

O aporte nutricional diário de cada RNMPT foi calculado através do volume e da composição nutricional do LH, realizado por AE, e do suprimento por via parentérica.

Todos os dados foram obtidos por consulta dos processos clínicos.

Preparação e análise do leite

As mães dos RNMPT extraíram regularmente o LM, armazenando-o em frascos de polipropileno, identificado com a vinheta do RN, onde registaram a data e hora da extração. Na sua maioria, esse leite foi congelado e conservado a -20°C, num congelador da Unidade.

O LM foi descongelado de acordo com o volume prescrito, respeitando a cronologia de extração. O leite dos vários frascos de cada RN foi misturado, por forma a uniformizar o aporte diário. De cada mistura, retiravam-se 3 ml para análise.

Sempre que o LM não foi suficiente para cumprir o volume prescrito, foi utilizado o LD nas tomas em falta.

Para realização da análise, as amostras foram aquecidas a 40°C e homogeneizadas ultrassónicamente durante 3 segundos, utilizando o homogeneizador Sonicator, Miris®. Foi ainda utilizado o analisador de LM Miris HMA® (MIRIS AB, Uppsala, Sweden), para determinação da composição em macronutrientes. Para efeitos do estudo, foram utilizados os teores de energia (kcal/dl), proteína e gordura (g/dl).

Fortificação do leite

A fortificação do leite foi feita com base na composição do LM e do LD, quando utilizado. Calculou-se a quantidade de fortificante de LM e concentrado proteico (CP) a adicionar, e TCM a administrar.

Estes cálculos foram orientados pelas recomendações da ESPGHAN, utilizando os intervalos superiores das recomendações: 4,5 g/kg/dia de proteínas para RNMPT com peso <1000g, 4,0 g/kg/dia de proteínas para RNMPT com peso entre 1000g e 1800g e 135 kcal/kg/dia. No cálculo do aporte lipídico, houve o cuidado de não ultrapassar 50% em calorias lipídicas.⁽⁹⁾

Crescimento

Foi feita a avaliação antropométrica dos RNMPT, de acordo com as técnicas recomendadas.⁽¹⁵⁾

Os RN foram pesados diariamente durante todo o internamento. Quando por motivos clínicos não foi possível a obtenção do peso, utilizou-se para efeitos de cálculo, o último peso avaliado.

A taxa de crescimento dos RN foi avaliada através da velocidade ponderal (g/kg/dia), velocidade de crescimento longitudinal e do PC (cm/semana). A velocidade ponderal foi calculada por uma fórmula descrita por *Patel et al. 2009*, relativa a todo o internamento dos RN.⁽¹⁶⁾

Análise estatística

Utilizou-se o IBM® SPSS® Statistic 25 para tratamento estatístico dos dados. Foi feita a análise descritiva das variáveis quantitativas, obtendo as medidas de tendência central e medidas de dispersão.

Para avaliação da normalidade de variáveis numéricas, foi realizado o teste *Shapiro-Wilk*.

Foram usados testes estatísticos – teste *T-student*, correlação de *Spearman*, teste de *Mann-Whitney*, teste exato de Fisher e teste Qui-quadrado, quando aplicáveis.

Os valores de proteína e energia obtidos eram usados para cálculo das prescrições nutricionais durante a semana seguinte, até nova análise. Sempre que não houve LM suficiente para análise e para colmatar os valores em falta, foi feito o cálculo indireto da composição do LM (através do modelo misto), com base em estudos que integram duas meta-análises sobre a progressão da composição do LM de RNPT.^(17, 18) Este processo de cálculo indireto foi utilizado no estudo do grupo controlo.⁽¹³⁾

Questões éticas

Para cada RN elegível a entrar no estudo foi pedida autorização aos pais por um consentimento informado. Cada participante foi identificado por um número de código. A informação recolhida de cada RN foi identificada na base de dados pelo mesmo número de código, nunca contendo dados identificativos do participante.

Os dados da componente retrospectiva foram obtidos de um estudo previamente realizado⁽¹³⁾, utilizando unicamente os dados anonimizados para comparação com a fase prospetiva do estudo. O estudo prévio já possuía as devidas autorizações. Assim, todos os dados eram anonimizados, salvaguardando a privacidade dos participantes e confidencialidade dos dados.

Resultados

Foram recrutados 19 RN elegíveis para o estudo, no período de 14 de março a 31 de maio de 2018. Destes, foram excluídos 7 RN pelo facto de as mães não terem leite em quantidade suficiente para análise, etapa necessária à fortificação alvo. Foram incluídos 12 RNMPT neste estudo.

Dos RN incluídos, e relativamente à IG ao nascer, não houve diferenças significativas entre o grupo de estudo e o grupo controlo. As restantes variáveis apresentaram diferenças significativas (peso ao nascer, comprimento ao nascer, PC ao nascer) – **Tabela I**.

Os mesmos parâmetros avaliados, no dia da alta hospitalar, não apresentam diferença significativa entre os grupos - **Tabela II**.

Tabela I. Caraterísticas dos RN no nascimento. (* com diferenças significativas)

	Grupo estudo (n=12)	Grupo controlo (n=33)	
IG ao nascer (semanas), média (DP)	29,0 (\pm 1,6)	30,0 (\pm 1,8)	$p=0,156$
Peso ao nascer (g), mediana (IIQ)	985 (810 – 1176)	1175 (1010 – 1408)	$p=0,017^*$
Comprimento ao nascer (cm), média (DP)	34,7 (\pm 2,6)	38,2 (\pm 3,2)	$p=0,001^*$
PC ao nascer (cm), média (DP)	25,2 (\pm 1,8)	26,9 (\pm 2,1)	$p=0,018^*$

DP: Desvio padrão; IIQ: Intervalo interquartil.

Tabela II. Caraterísticas dos RN na alta hospitalar. (* com diferenças significativas)

	Grupo estudo (n=12)	Grupo Controlo (n=33)	
IG alta (semanas), mediana (IIQ)	37,0 (35,2 – 39,8)	36,3 (35,1 – 37,6)	$p=0,368$
Peso na alta (g), média (DP)	2038 (\pm 193)	2131 (\pm 201)	$p=0,172$
Comprimento na alta (cm), média (DP)	43,2 (\pm 2,7)	44,2 (\pm 2,0)	$p=0,196$
PC na alta (cm), média (DP)	31,7 (\pm 1,9)	31,8 (\pm 1,5)	$p=0,862$

DP: Desvio padrão; IIQ: Intervalo interquartil.

Relativamente a outras características que, de alguma forma, podem interferir com o aporte nutricional e/ou o crescimento do RN (**Tabela III**), apenas tem significado estatístico o facto de serem LIG (peso ao nascer <P10), terem tido pelo menos um episódio de sépsis tardia, o número de dias de internamento e o dia do início da fortificação do LM.

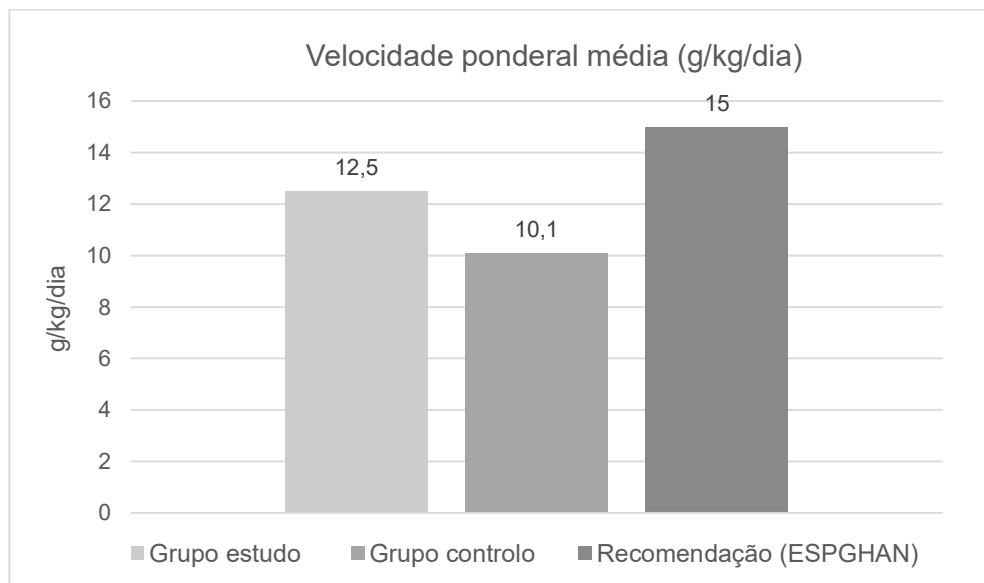
Tabela III. Características dos participantes dos dois grupos. (* com diferenças significativas)

	Grupo estudo (n=12)	Grupo Controlo (n=33)	
Sexo feminino, n (%)	7 (58,3)	11 (33,3)	$p=0,175$
Gémeos, n (%)	3 (25)	4 (12,1)	$p=0,362$
LIG, n (%)	3 (25)	0 (0)	$p=0,016 *$
Sépsis tardia, n (%)	5 (41,7)	4 (12,1)	$p=0,043 *$
DBP, n (%)	4 (33,3)	3 (9,1)	$p=0,069$
Corticoides pré-natal, n (%)	12 (100)	33 (100)	–
Corticoides pós-natal, n (%)	2 (16,7)	1 (3)	$p=0,169$
ROP, n (%)	1 (8,3)	3 (9,1)	$p>0,9$
ECN, n (%)	0 (0)	0 (0)	–
Tempo de internamento (dias), média (DP)	62 (\pm 21)	48 (\pm 18)	$p=0,034 *$
Início da fortificação (dias), média (DP)	16 (\pm 6)	12 (\pm 3)	$p=0,021 *$

DP: Desvio padrão; IIQ: Intervalo interquartil; LIG: Leve para a idade gestacional; DBP: Displasia broncopulmonar; ROP: Retinopatia da prematuridade; ECN: enterocolite necrotizante.

O grupo de estudo teve uma velocidade ponderal média durante o internamento de 12,5 g/kg/dia ($\pm 2,0$ g/kg/dia), enquanto o grupo controlo aumentou em média 10,1 g/kg/dia ($\pm 3,8$ g/kg/dia). Não houve diferenças significativas ($p=0,898$) – **Figura I**.

Figura I. Velocidade ponderal dos RN.



A velocidade de crescimento longitudinal dos RN do grupo estudo apresentou uma mediana de 0,94 cm/semana (IIQ: 0,81 – 1,28); a velocidade de crescimento do PC apresentou uma mediana de 0,68 cm/semana (IIQ: 0,58 – 0,92). No grupo controlo, os mesmos parâmetros foram de 0,92 cm/semana (IIQ: 0,63 – 1,08) no caso do comprimento e 0,75 cm/semana (IIQ: 0,58 – 0,82) no PC. Estes resultados não tiveram diferenças significativas ($p=0,255$ e $p=0,968$, respetivamente).

Relativamente ao suprimento nutricional dos RN, o aporte energético e a relação P:E apresentaram diferenças significativas entre os dois grupos ($p<0,001$). Estão apresentados na **tabela IV** os aportes nutricionais conseguidos, em ambos os grupos, e as respetivas recomendações.⁽⁹⁾

Tabela III. Aporte nutricional dos RN dos dois grupos, e recomendações da ESPGHAN.

(* com diferenças significativas)

	Grupo estudo (n=12)	Grupo controlo (n=33)		Recomendações (ESPGHAN)
Energia (kcal/kg/dia), mediana (IIQ)	134,0 (117,7 – 182,6)	129,8 (115,1 – 145,0)	$p<0,001^*$	110 – 135 kg/kg/dia
Proteína (g/kg/dia), mediana (IIQ)	3,8 (3,1 – 5,4)	4,2 (3,6 – 4,7)	$p<0,207$	<1kg: 4,0 – 4,5 g/kg/dia
				1-1,8kg: 3,5 – 4,0 g/kg/dia
Lípidos (g/kg/dia), mediana (IIQ)	6,6 (5,4 – 8,5)	–	–	4,8 – 6,6 g/kg/dia
Razão P:E, mediana (IIQ)	2,7 (2,3 – 3,2)	3,3 (2,8 – 3,7)	$p<0,001^*$	>3 – 3,6 g/100 kcal

IIQ: Intervalo interquartil.

No grupo estudo, foram atingidas as recomendações do aporte energético em 85,8% dos RN, o aporte proteico em 60,4%, o lipídico em 83,8% e a relação P:E em 25,4%.

A percentagem de kcal lipídicas apresentou uma mediana de 42% (IIQ: 33 – 47).

Discussão

O aumento da taxa de sobrevivência dos RNMPT e o desenvolvimento de uma abordagem nutricional que lhes proporcione um crescimento adequado, tem constituído um desafio para neonatologistas e nutricionistas.

É hoje tão consensual a superioridade do LM como a necessidade da sua fortificação, que pode ser feita segundo 2 métodos, tal como já referido.

Segundo alguns autores, a fortificação ajustada (método inicial e mais utilizado) parece ser viável e segura, garantindo um crescimento satisfatório sem registo de efeitos adversos.^(11, 12)

Outros autores defendem a fortificação alvo como garantia de um aporte nutricional mais adequado e, conseqüentemente, favorecedora da maior velocidade de crescimento dos RN. Este método implica a realização frequente da análise do LM, o que implica recursos humanos e materiais nem sempre disponíveis nas Unidades.^(11, 14, 19) A apoiar a fortificação alvo surge o facto de a densidade em macronutrientes no LM variar com o tempo de lactação, a IG, a hora do dia e ainda o decorrer da extração.^(20, 21)

Neste estudo foram feitas as análises semanais do LM e considerados esses valores, para cálculo do aporte nutricional, durante a semana seguinte. Esta foi a primeira dificuldade encontrada e, a nosso ver, o principal ponto fraco.

Na Unidade, o armazenamento do LM é feito em frascos de 90/100ml, que vão sendo preenchidos à medida que a mãe o vai extraindo. Cada mãe pode utilizar em cada extração, um ou mais frascos. Dependendo do volume de extração, é possível ter LM com diferentes composições, em frascos diferentes.

Nem sempre num dia, os RN recebem todo o leite de uma extração, daí a dificuldade que algumas vezes tivemos em aceitar como representativa do leite da

mãe, a amostra analisada. Contudo utilizámos todos os valores que encontrámos, como base de cálculo para a fortificação.

O aporte energético esteve de acordo com as recomendações, mas próximo do limite superior. Este facto parece dever-se: (1) à existência de 33,3% de crianças com DBP, que têm necessidade energéticas superiores; (2) à alteração da política nutricional da Unidade – posterior ao tempo do estudo controlo – com utilização, por rotina, de TCM.

A percentagem de RN do estudo controlo que atingiram as recomendações calóricas foi de 85,8%, superior aos 15,2% do grupo controlo, e acima das nossas expectativas iniciais.

Foi analisada a percentagem das kcal lipídicas no aporte energético total e, mesmo assim, em nenhum dos RN estudados foram ultrapassados os 50%.

O aporte proteico ficou abaixo das nossas expectativas, ainda que dentro das recomendações. Acreditamos que esta diferença se deve ao facto já exposto de a quantidade de LM utilizada para extrair a amostra para análise, poder nem sempre ser representativa da composição média do leite. Acresceu o facto de, em caso de insuficiência (impossível de prever) de LM, este ter sido substituído por LD, com densidade proteica habitualmente inferior. As nossas expectativas em relação ao aporte proteico era de que 80% dos RN atingissem as recomendações, quando na verdade só o conseguimos em 60,4%.

A razão P:E encontrada mostrou-nos que, tendo conseguido um bom suprimento energético, existe margem para o aumento do suprimento proteico que, como demonstrado em termos de mediana, ficou aquém do esperado.

Contudo, acreditamos ter sido este suprimento calórico o fator promotor da melhor velocidade de crescimento encontrada no grupo de estudo. Poderia ter sido apenas por aumento do peso (com risco de aumento rápido da massa gorda), mas a velocidade do crescimento longitudinal também foi superior no grupo de estudo, podendo isso ser justificado pelo melhor aproveitamento da proteína para o crescimento.

Conclusões

Numa primeira análise e ressaltando o facto de se tratar do início de um estudo ainda com uma amostra muito pequena cremos que, do ponto de vista da adequação do aporte nutricional e da velocidade de crescimento, a fortificação alvo se revelou mais eficaz. O crescimento dos RN do grupo de estudo aproximou-se do recomendado, apesar de terem sido RN mais imaturos, com menor peso ao nascer e com maior percentagem de LIG.

Podendo parecer que a análise semanal do LM é insuficiente para conseguir o aporte nutricional recomendado a todos os RN, é nossa convicção que esta prática, além de ter mostrado resultados positivos em termos de crescimento, é compatível com a rotina, recursos humanos e materiais das Unidades de Cuidados Intensivos e Intermédios Neonatais.

Agradecimentos

Quero agradecer aos restantes autores deste estudo,

Dr.^a Manuela Cardoso e Prof. Doutor Israel Macedo, por toda a ajuda e apoio.

À FCNAUP, em especial pelo auxílio no decorrer do trabalho e análise estatística.

Ao Centro de Investigação do CHLC, pela disponibilidade que demonstrou
em ajudar neste estudo.

Referências

1. World Health Organization, March of Dimes, The Partnership for Maternal NCH, Save the Children. Born Too Soon - The Global Action Report on Preterm Birth. 2012.
2. INE. Estatísticas Demográficas 2016. Instituto Nacional de Estatística, IP ed. www.ine.pt; 2016.
3. Pereira-da-Silva L, Gomes A, Macedo I, Alexandrino A, Pissarra S, Cardoso M. Nutrição entérica na criança nascida pré-termo: Revisão do consenso nacional. Acta Pediátrica Portuguesa 2014(45):326-39.
4. Su BH. Optimizing nutrition in preterm infants. Pediatrics and neonatology. 2014; 55(1):5-13.
5. Ehrenkranz RA. Extrauterine growth restriction: is it preventable? Jornal de pediatria. 2014; 90(1):1-3.
6. Tudehope D, Fewtrell M, Kashyap S, Udaeta E. Nutritional needs of the micropreterm infant. The Journal of pediatrics. 2013; 162(3 Suppl):S72-80.
7. Heiman H, Schanler RJ. Enteral nutrition for premature infants: the role of human milk. Seminars in fetal & neonatal medicine. 2007; 12(1):26-34.
8. Agosti M, Tandoi F, Morlacchi L, Bossi A. Nutritional and metabolic programming during the first thousand days of life. La Pediatria medica e chirurgica : Medical and surgical pediatrics. 2017; 39(2):157.
9. Agostoni C, Buonocore G, Carnielli VP, De Curtis M, Darmaun D, Decsi T, et al. Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. 2010; 50(1):85-91.

10. Arslanoglu S, Corpeleijn W, Moro G, Braegger C, Campoy C, Colomb V, et al. Donor human milk for preterm infants: current evidence and research directions. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2013; 57(4):535-42.
11. Bhatia J. Human Milk for Preterm Infants and Fortification. Nestle Nutrition Institute workshop series. 2016; 86:109-19.
12. Ziegler EE. Human milk and human milk fortifiers. *World review of nutrition and dietetics*. 2014; 110:215-27.
13. Macedo I, Pereira-da-Silva L, Cardoso M. Associations of Measured Protein and Energy Intakes with Growth and Adiposity in Human Milk-Fed Preterm Infants at Term Postmenstrual Age: A Cohort Study. 2018.
14. Arslanoglu S, Moro GE, Ziegler EE. Adjustable fortification of human milk fed to preterm infants: does it make a difference? *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association*. 2006; 26(10):614-21.
15. Pereira-da-Silva L. Neonatal anthropometry: a tool to evaluate the nutritional status, and to predict early and late risks. 2012.
16. Patel AL, Engstrom JL, Meier PP, Jegier BJ, Kimura RE. Calculating postnatal growth velocity in very low birth weight (VLBW) premature infants. *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association*. 2009; 29(9):618-22.
17. Gidrewicz DA, Fenton TR. A systematic review and meta-analysis of the nutrient content of preterm and term breast milk. *BMC pediatrics*. 2014; 14:216.
18. Boyce C, Watson M, Lazidis G, Reeve S, Dods K, Simmer K, et al. Preterm human milk composition: a systematic literature review. *The British journal of nutrition*. 2016; 116(6):1033-45.

19. Maly J, Burianova I, Vitkova V, Ticha E, Navratilova M, Cermakova E. Preterm human milk macronutrient concentration is independent of gestational age at birth. Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition. 2018
20. Ballard O, Morrow AL. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. Pediatric clinics of North America. 2013; 60(1):49-74.
21. Schanler RJ. Human milk supplementation for preterm infants. Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992) Supplement. 2005; 94(449):64-7.